

# **TRABAJO FIN DE MÁSTER**

## **MÁSTER DE MEDICINA, SANIDAD Y MEJORA ANIMAL**



UNIVERSIDAD  
D  
CÓRDOBA



Departamento de Sanidad Animal

**Prevalencia de patógenos zoonóticos (virus de Influenza Aviar, flavivirus del Complejo Antigénico de la Encefalitis Japonesa y *Salmonella spp.*) y resultados preliminares de parasitofauna hemática en paloma doméstica (*Columba livia domestica*) y animales de la colección del Parque Zoológico Municipal de Córdoba**

David Cano Terriza  
Córdoba, septiembre de 2014

# **TRABAJO FIN DE MÁSTER**

## **MÁSTER DE MEDICINA, SANIDAD Y MEJORA ANIMAL**



**Prevalencia de patógenos zoonóticos (virus de Influenza Aviar, flavivirus del Complejo Antigénico de la Encefalitis Japonesa y *Salmonella spp.*) y resultados preliminares de parasitofauna hemática en paloma doméstica (*Columba livia domestica*) y animales de la colección del Parque Zoológico Municipal de Córdoba**

VºBº Director

Ignacio García Bocanegra



UNIVERSIDAD  
DE  
CÓRDOBA



Departamento de Sanidad Animal

**IGNACIO GARCÍA BOCANEGRA, PROFESOR CONTRATADO DOCTOR DEL  
DEPARTAMENTO DE SANIDAD ANIMAL DE LA UNIVERSIDAD DE CÓRDOBA**

**I N F O R M A:**

Que el trabajo de Fin de Máster titulado « Prevalencia de patógenos zoonóticos (virus de Influenza Aviar, flavivirus del Complejo Antigénico de la Encefalitis Japonesa y *Salmonella spp.*) y resultados preliminares de parasitofauna hemática en paloma doméstica (*Columba livia domestica*) y animales de la colección del Parque Zoológico Municipal de Córdoba» elaborado por el Licenciado en Veterinaria David Cano Terriza, ha sido realizado bajo mi dirección y asesoramiento reuniendo, a mi juicio, los requisitos necesarios para su lectura y defensa.

Y para que conste, y en cumplimiento de las disposiciones vigentes, expido el presente Informe en Córdoba a 5 de septiembre de dos mil catorce.

Ignacio García Bocanegra.

# ÍNDICE

Pág.

1. GLOSARIO DE TÉRMINOS	1
2. RESUMEN/SUMMARY	2
3. INTRODUCCIÓN	
3.1 Implicación de las palomas como reservorio de agentes infecto-contagiosos.	4
3.2 Influenza aviar.	6
3.3 Flavivirus del Complejo Antigénico de la Encefalitis Japonesa: virus de West Nile.	8
3.4 <i>Salmonella spp.</i>	9
3.5 Haemosporidiosis en paloma.	10
4. OBJETIVOS	13
5. MATERIALES Y MÉTODOS	
5.1 Diseño del estudio y muestreo.	14
5.2 Análisis laboratoriales.	15
5.3 Análisis estadísticos.	16
6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	
6.1 Virología: Virus de la Influenza aviar y flavivirus del Complejo Antigénico de la Encefalitis Japonesa.	17
6.2 Bacteriología: <i>Salmonella spp.</i>	20
6.3 Parasitología: Haemosporidiosis en paloma.	23
7. CONCLUSIONES	25
8. AGRADECIMIENTOS	26
9. REFERENCIAS	27

## **1. GLOSARIO DE TÉRMINOS**

**AGID:** Inmunodifusión en Gel de Agar.

**CAEJ:** Complejo Antigénico de la Encefalitis Japonesa.

**CDC:** Centro para el Control y Prevención de Enfermedades.

**CEEA:** Catálogo Español de Especies Amenazadas.

**CLM:** Castilla-La Mancha.

**CRSA:** Centre de Recerca en Sanitat Animal.

**EDTA:** Ácido etildiaminotetraacético.

**EEII:** Enfermedades Infecciosas.

**ELISA:** Ensayo por Inmunoabsorción Ligado a Enzimas.

**EPIs:** Equipos de Protección Individual.

**HI:** Inhibición de la hemaglutinación.

**IA:** Influenza Aviar.

**IABP:** Influenza Aviar de Baja Patogenicidad.

**IAAP:** Influenza Aviar de Alta Patogenicidad.

**JEV:** Virus de la Encefalitis Japonesa.

**OIE:** Oficina Internacional de Epizootias.

**OMSA:** Organización Mundial de Sanidad Animal.

**PZMC:** Parque Zoológico Municipal de Córdoba.

**RASVE:** Red de Alerta Sanitaria Veterinaria.

**TSN:** Test de Seroneutralización.

**VIA:** Virus de la Influenza Aviar.

**VWN:** Virus de West Nile.

## **2. RESUMEN**

Durante el periodo 2013-2014 se realizó un estudio transversal para determinar la prevalencia de patógenos zoonóticos y hemoparásitos en 154 palomas domésticas (*Columba livia* var. *domestica*) capturadas en el Parque Zoológico Municipal de Córdoba (PZMC) y en 93 muestras de animales de la colección del Parque.

Las muestras de suero se analizaron para detectar anticuerpos frente a virus de la Influenza Aviar (VIA) y flavivirus del Complejo Antigénico de la Encefalitis Japonesa (CAEJ). Así mismo, se analizaron muestras de contenidos digestivos y heces para el aislamiento de *Salmonella* spp. Paralelamente, se determinó la frecuencia de infección de hemoparásitos en 60 palomas.

No se detectaron anticuerpos frente a VIA en ninguna de las 148 (0,0%; IC<sub>95%</sub>:0,0-1,9) palomas analizadas mediante bELISA, mientras que se confirmó seropositividad en 5 de 28 (18,5%; IC<sub>95%</sub>:6,0-31,0) aves de la colección. Once de 142 (8,5%; IC<sub>95%</sub>:4,0-12,9) sueros de palomas presentaron anticuerpos frente a flavivirus del CAEJ mediante bELISA. Además, 4 de los 49 (8,2%; IC<sub>95%</sub>:1,9-14,5) ejemplares de la colección analizados resultaron seropositivos frente a flavivirus. El cultivo para el aislamiento de *Salmonella* spp. determinó ausencia de infección en las 152 muestras de contenido digestivo de paloma (0,0%; IC<sub>95%</sub>:0,0-1,9), mientras que 4 de 44 (9,1%; IC<sub>95%</sub>:1,0-17,2) muestras de heces de los animales de la colección resultaron positivas. *Haemoproteus* sub. *Haemoproteus* spp. fue detectado en 52 de las 60 (86,7%; IC<sub>95%</sub>:78,3-95,0) palomas analizadas.

Los resultados obtenidos indican circulación de flavivirus del CAEJ en la población de palomas y animales del PZMC. Estas especies podrían ser usadas como centinelas para la monitorización de flavivirus en zonas urbanas. La ausencia de positividad frente a VIA y *Salmonella* spp., sugieren que las palomas no tienen un papel relevante en la epidemiología de estos patógenos. Los resultados determinan una elevada diseminación de *Haemoproteus* (*H.*) en las poblaciones de palomas del PZMC, lo cual podría tener implicación para la conservación de algunas especies de aves.

**PALABRAS CLAVE:** Zoológico, paloma doméstica, virus, *Haemoproteus*, *Salmonella* spp.

## **2. SUMMARY**

A cross-sectional study was carried out to determine the prevalence of different pathogenic zoonotic agents and hemoparasites in 154 domestic pigeon (*Columba livia* var. *domestica*) and 93 samples of animals from the Córdoba Municipal Zoo Park (CMZP) between 2013 and 2014.

Serum samples were tested to determine the presence of antibodies against Avian Influenza virus (AIV) and flaviviruses of the Japanese Encephalitis Antigenic Complex (JEAC). Moreover, samples of digestive content were analyzed for *Salmonella spp.* isolation.

Seropositivity to AIV was not found in any of the 148 pigeons samples tested, while 5 out of 28 (18.5%; IC<sub>95%</sub>:6.0-31.0) zoo birds showed positive results using bELISA. A total of 11 out of 142 (8.5%; IC<sub>95%</sub>:4.0-12.9) pigeons analyzed presented antibodies to JEAC by bELISA. Thus, 4 out of 49 (8.2%; IC<sub>95%</sub>:1.9-14.5) zoo animals were seropositive against flaviviruses. *Salmonella spp.* was not isolated in any of the 152 intestine samples of pigeon (0.0%; IC<sub>95%</sub>:0.0-1.9), but 4 out of 44 samples (9.1%; IC<sub>95%</sub>:1.0-17.2) from zoo animals were positive. Finally, 52 out of 60 (86.7%; IC<sub>95%</sub>:78.3-95.0) were infected by *Haemoproteus sub. Haemoproteus spp.*

The results obtained in the present study indicate circulation of flaviviruses of the JEAC in domestic pigeons and animals from the CMZP. The absence of seropositivity against AIV and the negative cultures to *Salmonella spp.* in the pigeons tested, suggest a limited role of this species in the epidemiology of both diseases. Parasitological results suggest a widespread of *Haemoproteus (H.)* in the pigeon population, which could has implications for the conservation of bird species.

**KEY WORDS:** Zoo, domestic pigeon, virus, *Haemoproteus*, *Salmonella spp.*

### **3. INTRODUCCIÓN**

#### **3.1 Implicación de las palomas como reservorio de agentes infecto-contagiosos**

La paloma doméstica (*Columba livia* var. *doméstica*) está incluida dentro de la familia *Columbidae*, y es el resultado de la domesticación de la paloma bravía (*C. livia*), con la que se entrecruza, no representando en realidad una especie taxonómicamente distinta, sino más bien una subespecie domesticada. Es una de las especies de aves más frecuentemente observada en zonas urbanas y periurbanas. En las últimas décadas, sus poblaciones han crecido exponencialmente en dichas zonas, llegando a estar considerada como una plaga en áreas con densidades superiores a 300-400 aves/km<sup>2</sup>. Así por ejemplo, en Barcelona se estiman poblaciones superiores a 3.000 animales/km<sup>2</sup>, siendo una de las ciudades con mayores densidades del mundo (Senar, 2009). El incremento en sus poblaciones es el resultado de la reducción de factores selectivos como las condiciones ambientales, que hace que se pierda la estacionalidad de cría, la ausencia de depredadores importantes y la presencia abundante de agua y alimento (Amoruso, 2014).

La catalogación de especie plaga en muchas ciudades españolas viene asociada fundamentalmente a los daños causados por el deterioro del urbanismo. Para reducir estos problemas muchos ayuntamientos llevan a cabo de forma periódica campañas de control de población con métodos como la cetrería, uso de esterilizantes, repelentes o captura y sacrificio de ejemplares (Avery, 2008; Senar, 2009; Ferri, 2011).

Las palomas están consideradas importantes reservorios peridomésticos de muchas enfermedades infecto-contagiosas, con el consecuente riesgo para la Salud Pública y Sanidad Animal. Enfermedades como la enfermedad de NewCastle, histoplasmosis, ornitosis, salmonelosis, o criptococosis han sido detectadas en poblaciones de palomas en diferentes países (Dovc, 2004; De-Sousa, 2010).

En los parques zoológicos las palomas encuentran un nicho ideal para su supervivencia lo que fomenta el aumento de sus poblaciones hasta niveles incluso superiores a los encontrados en otras zonas urbanas. Esta situación implica un riesgo evidente desde un punto de vista de la Salud Pública, bien por el contacto directo entre el personal laboral y/o visitantes y las palomas, o indirectamente a través de secreciones y excreciones eliminadas por éstas. Además, el riesgo de transmisión de enfermedades de las palomas a los animales de la colección zoológica, adquiere una importancia desde el punto de vista de Sanidad Animal y de la conservación, dado que algunas de las especies están catalogadas como



amenazadas o en peligro de extinción. Finalmente, dado que una paloma adulta consume diariamente alimento equivalente al 15% de su peso, elevadas poblaciones de esta especie pueden suponer un problema económico en los parques zoológicos asociado al consumo de alimentos destinados a los ejemplares de la colección.

El Parque Zoológico Municipal de Córdoba (PZMC) se encuentra en la Avda. de Linneo, s/n de Córdoba, cerca del espacio natural protegido Sotos de la Albolafia. Posee una superficie de 4,5 hectáreas, contando con más de 430 ejemplares de más de 100 especies diferentes (Figura 1). Los objetivos de dicho Parque se fundamentan en tres pilares: conservación, educación e investigación.



**Figura 1.** Plano del Parque Zoológico Municipal de Córdoba.

Debido a la elevada densidad de palomas existente en el PZMC, esta especie está considerada plaga, llevándose a cabo un programa de control de población en los últimos años. Además, teniendo en cuenta los factores anteriormente expuestos, el estudio de patógenos en las poblaciones de palomas es un punto fundamental para evitar el riesgo de transmisión de enfermedades a otras especies con las que entra en contacto, incluido el hombre. Con este objetivo, el PZMC firmó en 2013 un convenio de colaboración con el Departamento de Sanidad Animal de la UCO, para determinar la presencia de diferentes agentes patógenos zoonóticos y hemoparásitos en las palomas capturadas en el Parque, así como en animales presentes en la colección.

### 3.2 Influenza Aviar

La gripe o Influenza Aviar (IA) es una enfermedad infecciosa altamente contagiosa, incluida en la lista del Código Zoonosario Internacional de la OMSA (OIE). El agente etiológico es un virus ARN del género *Influenzavirus A* de la familia *Orthomyxoviridae*. En la superficie lipídica de este virus destacan dos glicoproteínas; Hemaglutinina (H) y Neuraminidasa (N), de las que se han identificado 18H y 11N diferentes (Tong y cols., 2013). En función de las H y N, los virus de IA se clasifican como virus IA de baja patogenicidad (IABP) que puede cursar con formas clínicas leves o inaparentes, y virus IA de alta patogenicidad (IAAP), que dan lugar a formas de enfermedad grave con altas tasas de mortalidad y letalidad (OIE, 2014).

La IA puede afectar a diversas especies aviares, tanto domésticas como silvestres, siendo estas últimas los principales reservorios del virus. Además, la IA afecta también a diferentes especies de mamíferos, incluido el hombre, estando considerada como una importante enfermedad zoonótica emergente en diferentes continentes (Jeong-Ki, 2009). Desde la primera declaración de un brote asociado a virus de IAAP, subtipo H5N1, a finales de 2002 en Sudeste Asiático, el virus se ha extendido rápidamente en los últimos años, siendo actualmente endémico en diferentes países del continente Asiático, África y Europa (Liu J y col., 2005; Brown y cols. 2008; Gilbert y cols, 2008).

En España, se han producido dos brotes de IAAP hasta la fecha; el primero en 2006 en la Comunidad Autónoma Vasca, aislándose en un somormujo lavanco (*Podiceps cristatus*) y el segundo en 2009 en aves ponedoras en Guadalajara (CLM). Otros tres brotes de IABP han sido también declarados en nuestro país; en Andalucía en enero de 2008 en ave silvestre y en junio de 2009 en Navarra y mayo de 2013 en Cataluña, ambos en aves de corral (RASVE, 2014). Aunque no se ha detectado circulación de IAAP en Andalucía, estudios previos han determinado la presencia de anticuerpos frente a H5 y H7 en poblaciones de anátidas (Arenas y cols. 1990; Astorga y cols. 1994; Jurado-Tarifa, 2014).

Las aves silvestres no desarrollan por lo general signos clínicos y pueden transportar y diseminar el virus grandes distancias (Keawcharoen y cols., 2008). Además, el virus puede permanecer activo en el medio durante periodos prolongados de tiempo, favoreciéndose su transmisión entre aves silvestres, como las palomas y aves domésticas con las que entran en contacto. En este sentido, estudios experimentales indican que la paloma es una especie susceptible a la infección por VIA, si bien, los resultados muestran que no elimina cantidad suficiente de virus para producir infección de otras especies (Perkins y Swayne, 2002).

Estudios realizados en diferentes países de Europa en los últimos años muestran una limitada circulación de VIA en las poblaciones de palomas (Tabla1).

**Tabla 1.** Estudios en Europa en especies de la familia *Columbidae*.

PAÍS	ESPECIE	DETECCIÓN VÍRICA [Subtipo]	DETECCIÓN ANTICUERPOS [Método]	REFERENCIA
ITALIA	Tórtola turca ( <i>Streptopelia decaocto</i> )	1/19 (5,3%) [H7N1]	–	Capua y cols., 2000
ESLOVENIA	Paloma doméstica ( <i>Columba livia</i> )	0/139 (0%)	0/139 (0%) [HI] <sup>1</sup>	Dovc y cols., 2004
NORUEGA	Paloma doméstica ( <i>Columba livia</i> )	0/200 (0%)	–	Lillehaug y cols., 2005
ESLOVAQUIA	Paloma doméstica ( <i>Columba livia</i> )	12/50 (24%) [H7N3, H9N5, H7N6, H14N8]	–	Gronesova y cols., 2009
ESPAÑA	Paloma doméstica ( <i>Columba livia</i> )	0/8 (0%)	–	Pérez-Ramírez y cols., 2010
	Paloma torcaz ( <i>Columba palumbus</i> )	0/8 (0%)	–	
	Tórtola turca ( <i>Streptopelia decaocto</i> )	0/15 (0%)	–	
UCRANIA	Tórtola turca ( <i>Streptopelia decaocto</i> )	0/45 (0%)	–	Kulak y cols., 2010
BULGARIA	Paloma doméstica ( <i>Columba livia</i> )	–	0/5 (0%) [HI] <sup>1</sup>	Dimitov y cols., 2010
ALEMANIA	Paloma doméstica ( <i>Columba livia</i> )	0/408 (0%)	0/364 (0%) [HI <sup>1</sup> , AGID <sup>2</sup> , bELISA <sup>3</sup> ]	Kohl y cols., 2011
	Paloma doméstica ( <i>Columba palumbus</i> )	0/170 (0%)	2/123 (1,6%) [bELISA] <sup>3</sup>	
ALEMANIA	Paloma doméstica ( ( <i>Columba livia</i> )	13/678 (1,9%) [H?N?]	0/448 (0%) [bELISA] <sup>3</sup>	Teske y cols., 2013

1. HI: Inhibición de la hemaglutinación.

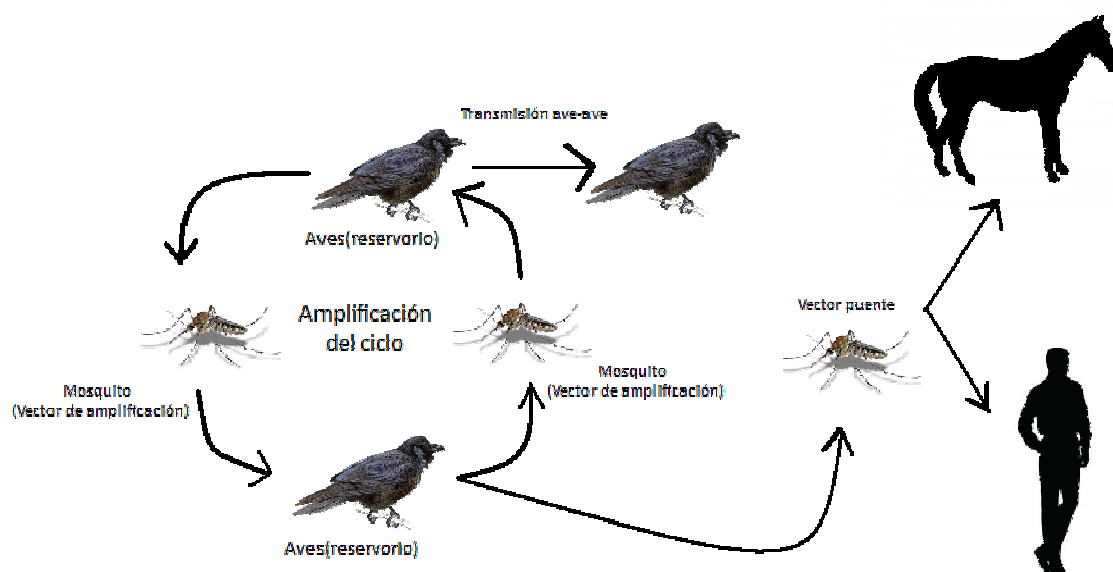
3. ELISA: Ensayo inmunoenzimático de bloqueo.

2. AGID: Inmunodifusión en gel de agar.

### 3.3 Flavivirus del Complejo Antigénico de la Encefalitis Japonesa: virus de West Nile

La enfermedad de West Nile está producida por un arbovirus del género *Flavivirus*, dentro de la familia *Flaviviridae*. El virus de West Nile (VWN) está incluido dentro del Complejo Antigénico de la Encefalitis Japonesa (CAEJ) cuyo genoma comprende una molécula de ARN de cadena sencilla y polaridad positiva (Mackenzie y cols., 2004). Considerados patógenos emergentes o re-emergentes en muchos países de la cuenca mediterránea, el los flavivirus son responsables de infecciones en un amplio rango de especies, incluido el hombre. En la última década, el número de casos declarados en caballos, aves y personas se ha incrementado considerablemente en Europa (Sotelo y cols., 2011).

El VWN se mantiene en la naturaleza en un ciclo enzoótico entre mosquitos ornitofílicos y las aves, que constituyen los hospedadores naturales amplificadores. Sin embargo, en determinados casos, este ciclo puede romperse, infectando a otros hospedadores vertebrados como los caballos o el hombre, que actúan como fondos de saco epidemiológico (Figura 2).



**Figura 2.** Ciclo epidemiológico del VWN.

Aunque muchas especies de aves son resistentes a la enfermedad, se han descrito casos clínicos y mortalidad en diferentes especies de rapaces, córvidos y passeriformes (Komar y cols., 2003). En España se ha demostrado la circulación del virus en diferentes especies de aves, migratorias y residentes, con seroprevalencias que varían según las especies (García-Bocanegra y cols., 2011).

Diversos estudios realizados en EE.UU. determinan elevadas seroprevalencias en palomas. Sin embargo, en Europa, el número de publicaciones relacionadas con la serovigilancia del VWN en esta especie es muy limitado, observándose prevalencias que varían entre el 0% en Francia y el 54% en Grecia (Tabla 2). Desde nuestro conocimiento, no existen datos de circulación de VWN en poblaciones de palomas en España.

**Tabla 2.** Prevalencia de anticuerpos frente al virus de West Nile en palomas domésticas de diferentes países.

PAIS	N	PREVALENCIA (%)	REFERENCIA
GRECIA	510	31-54	Chaintoutis y cols., 2014
ITALIA	93	12,9	Calistri y cols., 2010
ITALIA	282	8,51	Monaco y cols., 2010
FRANCIA	69	0	Lena y cols., 2006
EE.UU.	446	18,2	Wheeler y cols., 2009
EE.UU.	499	25,7	Andrew y cols., 2004
EE.UU	-	54,5	Komar y cols., 2000

### 3.4 *Salmonella* spp.

En la actualidad, *Salmonella* spp. junto con *Campylobacter* spp. constituye uno de los principales agentes zoonóticos implicados en toxiinfecciones alimentarias en todo el mundo (Lahuerta y cols., 2010). *Salmonella* spp. está presente en un amplio rango de hospedadores, incluyendo muchas especies domésticas de producción, y su transmisión se asocia principalmente al consumo de alimentos (Tauxe, 1997). No obstante, hay que considerar otras posibles fuentes de infección, como las relacionadas con la manipulación de animales portadores o las procedentes de los reservorios silvestres (Molina-López y cols., 2011).

*Salmonella* spp. se localiza habitualmente en el tracto digestivo de las aves silvestres. Las rapaces y aves carroñeras se infectan al ingerir presas infectadas, mientras que otras especies como las palomas, adquieren la infección en zonas con densidades elevadas de animales como vertederos, zonas de cría, parques urbanos, etc. (Tizard, 2004; Candela y cols., 2008).

En los zoológicos conviven una gran diversidad de especies susceptibles a la infección por *Salmonella spp.* muchas de ellas portadoras inaparentes como los reptiles (Awad-Masalmeh y cols., 2005; Hydeskov y cols., 2013). Las palomas, bien actuando como

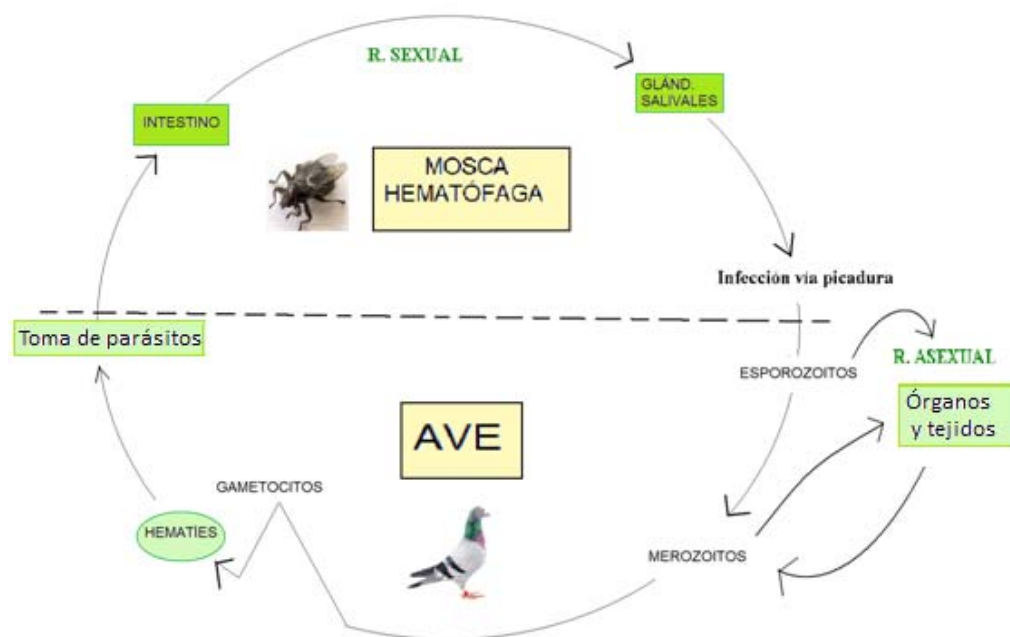
fuente de infección o como especie puente, pueden jugar un papel importante en la transmisión. A pesar del posible papel de las palomas en la transmisión de *Salmonella spp.*, el número de estudios realizados en diferentes países, incluido España, sigue siendo muy limitado hasta la fecha, mostrando prevalencias con rangos que oscilan entre el 0 y el 8% (Tabla 3).

**Tabla 3.** Prevalencia de *Salmonella spp.* en palomas doméstica de diferentes países.

PAIS	N	PREVALENCIA (%)	REFERENCIA
ESPAÑA	400	1,5	Casanovas y cols., 1995
NORUEGA	71	0	Rosef, O., 1981
NORUEGA	71	0	Kapperud y Rosef, 1983
NORUEGA	200	0	Lillehaug y cols., 2005
ITALIA	1800	0,9	Gargiulo y cols., 2014
ALEMANIA	3480	0,9-3,7	Teske y cols., 2005
ESLOVENIA	139	5,7	Dove y cols., 2004
EE.UU.	277	3,2	Pedersen y cols., 2006
JAPON	236	3,9	Tanaka y cols., 2005
CHILE	100	4	Gonzalez-Acuna y cols., 2007
TRINIDAD Y TOBAGO	171	5	Adesiyun y cols., 1998
BRASIL	126	7,94	De Sousa y cols., 2010
CHILE	100	3	Toro y cols., 1999

### 3.5 Haemosporidiosis en paloma (*Haemoproteus columbae*)

Los hemosporidios son un grupo de parásitos protozoos que parasitan aves, anfibios, reptiles y mamíferos usando dípteros hematófagos como vectores (Valkiunas, 2005). Es uno de los grupos de protozoos más estudiados ya que incluye al agente causal de la malaria en humanos, enfermedad producida por *Plasmodium spp.* que provocó 207 millones de casos clínicos y 627.000 muertes en 2012 (CDC, 2014). La haemosporidiosis hace referencia también a la enfermedad producida por agentes de las familias *Haemoproteidae*, *Leucocytozoidae*, y *Garniidae* principalmente (Valkiunas, 2005).



**Figura 3.** Ciclo epidemiológico del género *Haemoproteus* spp.

Las especies de *Haemoproteus* spp. que infectan a las aves son parásitos intraeritrocitarios muy cosmopolitas con más de 100 especies identificadas hasta la fecha. Son muy similares a los protozoos del género *Plasmodium*, aunque, a diferencia de estos últimos, la reproducción asexual o merogonia de *Haemoproteus* spp. se realiza dentro de los tejidos en lugar de en los eritrocitos circulantes. *Haemoproteus* spp. son uno de los parásitos sanguíneos más frecuentes en aves silvestres. Sin embargo, su potencial patógeno en estas especies no está claramente determinado, y en ocasiones, sus hospedadores específicos o vectores no han sido definidos (Atkinson, 2008; Clark, 2009).

El género *Haemoproteus* se divide en dos subgéneros; el subgénero *Parahaemoproteus* (parásitos de aves pertenecientes a órdenes distintos a *Columbiformes*) y el subgénero *Haemoproteus* (parásitos de colúmbidos) (Tabla 4). La especie de hemosporidio que tiene por hospedador principal a la paloma doméstica es *Haemoproteus columbae*, encontrándose prevalencias frecuentemente elevadas que oscilan entre el 21% y 82% en diferentes países (Tabla 5).

La infección por *Haemoproteus* (*H.*) spp. en aves de zoológico del mismo orden que otras especies de aves portadoras inaparentes, como la paloma doméstica, podría cursar como una enfermedad clínica con la consecuente implicación desde un punto de vista de la conservación (Earle y cols., 1993; Ferrel y cols., 2007).



**Tabla 4.** Relación de especies de *Haemoproteus* (H.) que afectan a colúmbidos: hospedadores principales, vectores y distribución.

PARÁSITO	HOSPEDADOR PRINCIPAL	ARTRÓPODO VECTOR	DISTRIBUCIÓN
<i>Haemoproteus columbae</i> *	<i>Columba livia</i> (paloma doméstica)	- <i>Pseudolynchia canariensis</i> - <i>P. brunnea</i> - <i>Microlynchia pusilla</i>	Mundial (excepto Antártida)
<i>H. palumbis</i>	<i>Columba palumbus</i> (paloma torcaz)	- <i>Ornithomya aviculria</i>	Paleártico
<i>H. sacharovi</i> * <i>H. maccallumi</i>	<i>Zenaida macroura</i> (zenaida huilota)	- <i>P. canariensis</i>	Mundial (excepto Australia)
<i>H. turtur</i> *	<i>Streptopelia turtur</i> (tortola europea)	- <i>P. canariensis</i>	Paleártico
<i>H. krylovi</i>	<i>Pterocles orientalis</i> (ortega)	-	Tadzhikistan
<i>H. pteroclis</i>	<i>Pterocles alchata</i> (ganga común)	-	Norte de Irak

\* Posee hospedadores adicionales (Tabla 8).

**Tabla 5.** Prevalencia de *Haemoproteus columbae* en palomas urbanas de diferentes países.

PAIS	N	PREVALENCIA (%)	REFERENCIA
ESPAÑA	50	82	Foronda y cols., 2004
TURQUÍA	100	21	Senlik y cols., 2005
IRÁN	100	24	Samani y cols., 2013
IRÁN	48	47,05	Radfar y cols., 2011
BRASIL	58	46,55	Marcia y cols., 2007
BOTSWANA	-	80	Mushi y cols., 2000
UGANDA	34	76,5	Dranzoo y cols., 1999



#### **4. OBJETIVOS**

Los principales objetivos del presente estudio son:

- 1) Determinar la prevalencia de anticuerpos frente a VIA en palomas y aves de la colección del PZMC.**
- 2) Determinar la prevalencia de anticuerpos frente a flavivirus del CAEJ, incluido el VWN, en palomas y en animales de la colección del PZMC.**
- 3) Determinar la prevalencia de infección por *Salmonella spp.* en palomas y en animales de la colección del PZMC.**
- 4) Determinar la prevalencia de infección por *Haemoproteus spp.* en palomas del PZMC.**

## **5. MATERIALES Y MÉTODOS**

### **5.1 Diseño del estudio y muestreo**

Durante el periodo comprendido entre noviembre de 2013 y mayo de 2014 se muestrearon un total de 154 palomas domésticas (*Columba livia* var. *domestica*) capturadas vivas mediante la colocación de jaulas trampa dentro de las instalaciones del PZMC. Del total de animales capturados se realizó extracción de sangre de un total de 148 palomas mediante punción intracardíaca con aguja de 23G. Aproximadamente 2 ml de sangre se dispensaron en tubos estériles sin anticoagulante para posterior obtención de suero. Así mismo, a partir de 60 animales se obtuvieron aproximadamente 2 ml de sangre que fueron introducidos en tubo con EDTA para la realización de estudios de hemoparásitos.

Seguidamente los animales se eutanasiaron empleando 0,5 ml/Kg de pentobarbital sódico (DOLETHAL<sup>®</sup>) por vía intracardíaca. Se llevó a cabo necropsia de todos los ejemplares realizando un examen para la identificación de lesiones macroscópicas. A continuación, se procedió a la extracción completa del paquete intestinal en 152 palomas, introduciéndolos seguidamente en contenedores estériles. Paralelamente a la extracción de las muestras para la realización de estudios virológicos, bacteriológicos y parasitológicos, se cumplimentó una ficha de recogida de datos incluyendo información relacionada con los ejemplares muestreados (fecha de toma de muestras, sexo y edad).

Por otro lado, se obtuvieron muestras de suero de los ejemplares de la colección del PZMC sometidos a intervenciones quirúrgicas o muertos a lo largo del periodo de estudio. Así mismo, se recogieron muestras de suero existentes en la seroteca del PZMC. En total se incluyeron 49 muestras de suero pertenecientes a 21 especies. Para el aislamiento de *Salmonella* spp. se analizaron también 44 muestras de heces frescas pertenecientes a 35 especies distintas localizadas en los diferentes recintos del PZMC.

Las muestras de sangre, suero, heces y paquetes intestinales se mantuvieron en refrigeración hasta su llegada al laboratorio de diagnóstico de EE.II. del Departamento de Sanidad Animal de la Universidad de Córdoba. Las muestras de sangre sin anticoagulante se sometieron a centrifugación (2500 rpm durante 10 minutos) y posterior extracción del suero. Los sueros se dispensaron en alícuotas y congelados a -20°C hasta su posterior análisis.

## **5.2 Análisis laboratoriales**

### **5.2.1 Análisis virológicos.**

Para la detección de anticuerpos frente a VIA se realizó un análisis inmunoenzimático de bloqueo (bELISA) comercial (1.0.FLU.K3 INGEZIM INFLUENZA A<sup>®</sup>, Ingenasa, Madrid, España). Este ELISA detecta anticuerpos específicos frente a la nucleoproteína del virus de Influenza tipo A.

Para determinar la seropositividad frente a flavivirus del CAEJ se realizó un bELISA comercial (10.WNV.K3 INGEZIM West Nile COMPAC<sup>®</sup>, Ingenasa, Madrid, España). Este ELISA detecta anticuerpos específicos frente a la glicoproteína E del grupo de virus del CAEJ, incluido el VWN.

Ambos ELISA se realizaron siguiendo las recomendaciones de los fabricantes.

### **5.2.2 Aislamiento de *Salmonella* spp.**

Los paquetes digestivos procedentes de las palomas así como las heces recogidas de los animales de la colección se mantuvieron en refrigeración hasta la llegada al laboratorio, donde se procedió a su análisis dentro de las 24 horas posteriores a su recogida. Las heces de las palomas se obtuvieron de recto, realizándose un macerado de esta porción de intestino en caso de no presentar heces suficientes.

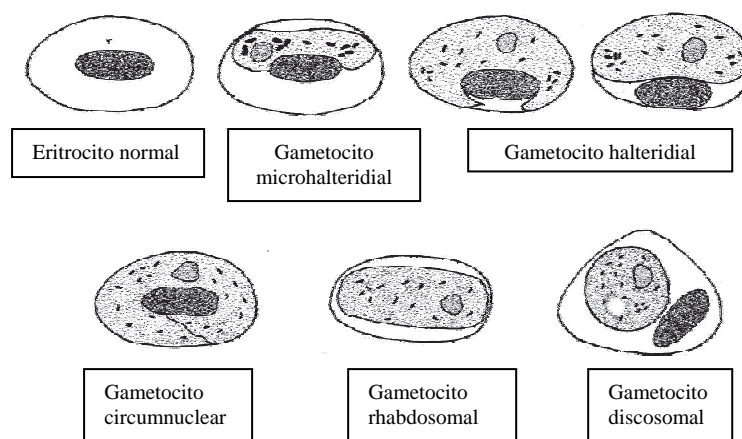
Las muestras obtenidas, tanto de las palomas como de los animales del zoológico, se procesaron tal y como establece el anexo D de la norma española UNE-EN ISO 6579:2002. Para la identificación bioquímica de las colonias compatibles con *Salmonella* (colonias sulfhídrico positivas) se emplearon las siguientes pruebas bioquímicas: agar triple azúcar hierro (agar TSI) (Oxoid<sup>®</sup>), agar lisina hierro (agar LIA) (Oxoid<sup>®</sup>), agar urea base (Oxoid<sup>®</sup>), y medio SIM (Oxoid<sup>®</sup>). Todas las siembras se realizaron por picadura y se incubaron a 37°C durante 24 horas.

Los aislamientos identificados como *Salmonella* spp. fueron sometidos a tipificación. Para ello, se enfrentaron diferentes antígenos de grupo y especie de *Salmonella* con las colonias sospechosas, utilizando sueros policlonales comerciales Bio-Rad<sup>®</sup>.

### 5.2.3 Detección de hemoparásitos.

Las muestras de sangre con EDTA se mantuvieron en refrigeración y tras su llegada al laboratorio fueron procesadas dentro de las primeras 72 horas tras la extracción. Se realizó una fijación de una gota de sangre empleando un portaobjetos. Tras dejar secar las extensiones se procedió a la tinción empleando una tinción monocromática modificada de Wright-Giemsa o Diff-Quik. A continuación se realizó una observación microscópica de las preparaciones utilizando el objetivo de inmersión (1000x) y recorriendo todos los campos de la superficie del portaobjetos para localizar formas parasitarias (gametocitos) intraeritrocitarios (Figura 5).

Una muestra fue considerada positiva si se observó al menos una forma parásita intraeritrocitaria, mientras que se determinaron como muestras negativas aquellas en las que no se observaron formas parasitarias compatibles en al menos tres frotis sanguíneos.



**Figura 5.** Distintas fases de gametocitos de *Haemoproteus* spp. que se pueden encontrar en los hematíes.

### 5.3 Análisis estadísticos

El análisis estadístico para el cálculo de la prevalencia de los diferentes patógenos incluidos en este trabajo, se determinó a partir de la relación entre resultados positivos y el número total de muestras examinadas, con su intervalo de confianza al 95%. La asociación entre los resultados y las variables independientes (sexo y edad) se analizó mediante el test de Chi-cuadrado de Pearson, y para variables con menos de 6 categorías se utilizó el test estadístico exacto de Fisher. Los análisis estadísticos se realizaron utilizando el programa informático SPSS 15.0 (Statistical Package for Social Sciences (SPSS) Inc., Chicago, IL, USA).

## **6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

### **6.1 Virus de la Influenza Aviar**

Los análisis serológicos para la detección de anticuerpos frente a VIA mostraron resultados negativos en las 148 palomas analizadas (0,0%; IC<sub>95%</sub>:0,0-1,9). Por otro lado, 5 de los 28 (18,5%; IC<sub>95%</sub>:6,0-31,0) sueros de las aves procedentes de la colección del PZMC presentaron resultados positivos al análisis. Se detectó seropositividad en ánade real, ganso emperador, ibis sagrado, pato picazo y suiriri piquirojo. Así mismo, una muestra de suero procedente de ñandú se consideró dudosa al análisis y fue excluida para la determinación de la prevalencia (Tabla 6). Cuatro de las 5 (80%) especies de aves seropositivas pertenecen al orden *Anseriformes*, el cual incluye las principales especies de reservorios del VIA. No se observaron diferencias estadísticamente significativas en la seroprevalencia con respecto al sexo o la edad.

Durante el año 2006 y entre noviembre de 2007 y mayo de 2008, se llevaron a cabo en España dos campañas de vacunación preventiva voluntaria frente a influenza aviar de aves cautivas en núcleos zoológicos. En 2006, 15 zoológicos vacunaron más de 2.600 aves con una vacuna recombinante inactivada de VIA H5N9 (Poluvac<sup>®</sup> i-AI H5N9-, Fort Dodge Animal Health, Weesp, Holanda). Durante la segunda campaña, 10 de los 15 zoológicos, usaron una vacuna recombinante inactivada de VIA H5N3 (Poluvac<sup>®</sup> i-AI H5N3-, Fort Dodge Animal Health, Weesp, Holanda) (Vergara y cols., 2011).

El suero de ibis seropositivo, así como el del ñandú dudoso, procedieron de muestras de la seroteca del PZMC. Aunque en el PZMC no se realizó campaña de vacunación frente a VIA, ambos animales procedieron del Zoobotánico de Jerez donde sí se realizó vacunación 3 y 6 años antes de la recogida del suero respectivamente. Teniendo en cuenta que la persistencia de anticuerpos vacunales frente a VIA es inferior a 1,5 años en aves silvestres de zoológico (Vergara y cols., 2011), y dado que el ibis y el ñandú se muestrearon al menos 3 años tras la vacunación, los resultados indican que los anticuerpos detectados están asociados a un contacto con el virus más que a la presencia de anticuerpos vacunales. El resto de muestras seropositivas procedieron de animales no incluidos en la campaña de vacunación.

Diferentes estudios experimentales determinan que las palomas son susceptibles a la infección por VIA con capacidad de eliminarlo a través de las heces o por secreciones orales y

respiratorias, si bien la infección en esta especie es normalmente asintomática (Abolnik, 2014). Sin embargo, los títulos de virus detectados en las secreciones y excreciones en estos

estudios están por debajo del umbral requerido para la infección de otras especies, considerándose a las palomas como especie “fondo de saco” epidemiológico. Por lo tanto, el papel que las palomas podrían desempeñar en la transmisión del VIA estaría más asociado a un contagio indirecto, por contaminación de sus patas y plumas. Sin embargo, dada la capacidad de adaptación de los VIA a nuevos hospedadores, sería interesante incluir a los colúmbidos en los programas de vigilancia epidemiológica.

## 6.2 Flavivirus del CAEJ.

Los análisis serológicos realizados a partir de 142 sueros de palomas revelaron que en 11 (8,5%; IC<sub>95%</sub>:4,0-12,9) ejemplares se detectaron anticuerpos específicos frente a la glicoproteína E de los flavivirus del CAEJ. Además, 12 muestras fueron dudosas y, por tanto, descartadas para el cálculo de la seroprevalencia. Por su parte, un total de 4 de los 49 (8.2%; IC<sub>95%</sub>:1,9-14,5) animales de la colección del Parque, incluyendo un avestruz, una cigüeña blanca, un ganso emperador y un ñu de cola blanca, mostraron resultados positivos al bELISA (Tabla 6). En el presente estudio no se detectaron diferencias estadísticamente significativas en la seropositividad con respecto al sexo o la edad, ni en palomas ni en animales de la colección del PZMC.

Dado que el bELISA no permite discernir frente a qué flavivirus del CAEJ son los anticuerpos detectados en las muestras positivas y/o dudosas, estos sueros están siendo analizados actualmente en el Laboratoire de Santé Animale de Maisons-Alfort para la realización de test de seroneutralización (TSN) frente a los flavivirus del CAEJ que han circulado en España en las últimas décadas (VWN y virus Usutu).

Nuestros resultados confirman la circulación de flavivirus pertenecientes al CAEJ en la población de palomas domésticas asentadas en el PZMC, así como en los animales de la colección de dicho Parque. Todos los animales seropositivos de la colección del Parque fueron adultos, por lo que no se puede determinar que el contacto con el virus sea reciente. Sin embargo, un ejemplar de paloma joven (animal de entre 1,5 y 6 meses de edad) resultó seropositivo. Dado que la persistencia de anticuerpos maternos en palomas es inferior a 27 días (Gibbs y cols., 2005), éste hallazgo indica circulación reciente de flavivirus del CAEJ en Córdoba. En este sentido, un total de 10 brotes de VWN fueron declarados en Andalucía durante el periodo de estudio (RASVE, 2014).

El elevado número de palomas seropositivas en éste y otros estudios (Tabla 2) sugieren un posible papel de esta especie en el mantenimiento local de flavivirus del CAEJ.

Teniendo en cuenta la abundancia, distribución y fácil captura de esta especie, proponemos el empleo de las palomas como especie centinela para la monitorización de flavivirus en zonas urbanas, tal y como ha sido previamente sugerido (Deegan y cols., 2005).

Estudios previos han confirmado la susceptibilidad del avestruz, cigüeña blanca y ganso emperador a la infección por el VWN (Hubalek y cols., 2008; Venter y cols., 2010). Sin embargo, la confirmación mediante TSN de la muestra de ñu de cola blanca, indicaría la primera descripción de seroconversión en este ungulado silvestre. Estudios recientes realizados en España han mostrado la susceptibilidad de diferentes especies de ungulados silvestres a la infección por flavivirus del CAEJ (Arenas-Montés y cols., 2014).

El presente estudio sugiere un potencial papel de algunas especies de la colección del PZMC en la amplificación de flavivirus del CAEJ, al igual que han demostrado otros estudios llevados a cabo en especies de zoológico (Levine y cols., 2013). El PZMC incluye en su colección especies tan emblemáticas como el quebrantahuesos (*Gypaetus barbatus*), catalogado como “en peligro de extinción” por el CEEA, y que es una especie susceptible a infección por VWN (Weissenböck, 2003). Por lo tanto, nuestros resultados ponen de manifiesto la necesidad de realizar una vigilancia activa y pasiva con el fin de detectar circulaciones tempranas de patógenos emergentes y/o re-emergentes en Córdoba.

**Tabla 6.** Detección de anticuerpos frente a virus de la IA y flavivirus del CAEJ en las especies de la colección del PZMC analizadas.

ESPECIE	Influenza	Virus del CAEJ
<b>ORDEN ARTIODACTYLA</b>		
Arrui ( <i>Ammotragus lervia</i> )	-	0/3
Ciervo común ( <i>Cervus elaphus</i> )	-	0/7
Gamo ( <i>Dama dama</i> )	-	0/1
Muflón ( <i>Ovis musimon</i> )	-	0/5
Pecari de collar ( <i>Pecari tajacu</i> )	-	0/3
Ñu de cola blanca ( <i>Connochaetes gnou</i> )		1/1 (100 %)
<b>ORDEN PERISSODACTYLA</b>		
Cebra de Burchell ( <i>Equus burchellii</i> )	-	0/1
<b>ORDEN ANSERIFORMES</b>		
Pato picazo ( <i>Netta peposaca</i> )	1/1 (100 %)	0/1
Suiriri piquirrojo ( <i>Dendrocygna autumnalis</i> )	1/3 (33,3 %)	0/3
Ánade real ( <i>Anas platyrhynchos</i> )	1/4 (25 %)	0/4
Ánsar indio ( <i>Anser indicus</i> )	0/3	0/3
Ganso emperador ( <i>Chen canagica</i> )	1/2 (50 %)	1/2 (50%)
<b>ORDEN ACCIPITRIFORMES</b>		
Buitre leonado ( <i>Gyps fulvus</i> )	0/1	0/1
Águila calzada ( <i>Hieraetus pennatus</i> )	0/1	0/1
<b>ORDEN GALLIFORMES</b>		
Pavo real ( <i>Pavo cristatus</i> )	0/1	0/1
<b>ORDEN STRUTHIONIFORMES</b>		
Ñandú ( <i>Rhea americana</i> )	0/2	0/2
Emú común ( <i>Dromaius novaehollandiae</i> )	0/4	0/4
Avestruz ( <i>Struthio camelus</i> )	0/2	1/2 (50 %)
<b>ORDEN CICONIIFORMES</b>		
Cigüeña blanca ( <i>Ciconia ciconia</i> )	0/2	1/2 (50 %)
<b>ORDEN PELECANIFORMES</b>		
Ibis sagrado ( <i>Threskiornis aethiopicus</i> )	1/2 (50 %)	0/2

### 6.3 *Salmonella* spp.

Durante el periodo de estudio se muestrearon 152 muestras de contenido digestivo de palomas para determinar la presencia de *Salmonella* spp., no detectándose infección en ninguno de los ejemplares analizados (0,0%; IC<sub>95%</sub>:0,0-14,5). Nuestros resultados sugieren que las palomas no juegan un papel importante en la transmisión de *Salmonella* spp. tanto a las especies de la colección del Parque como a otras especies con las que puedan entrar en contacto. Estos resultados son consistentes con los previamente observados en España y otros países como Italia, Noruega, Alemania (Casanovas y cols., 1995; Teske y cols., 2005; Lillehaug y cols., 2005; Gargiulo y cols., 2014).



Con respecto a los animales de la colección del Parque, de las 44 muestras de heces recogidas se obtuvieron 4 aislamientos de *Salmonella spp.* (9.1%; IC<sub>95%</sub>:1,0-17,2) procedentes de un jabalí, un avestruz, una serpiente del maíz y una serpiente falsa coral, no existiendo diferencias significativas atendiendo al sexo o edad (Tabla 7). Teniendo en cuenta que la excreción de *Salmonella spp.* es intermitente, la prevalencia detectada en los animales de la colección podría estar subestimada. Con los sueros comerciales disponibles en el departamento no se pudo llegar a la identificación de los aislados. Actualmente se están realizando estudios moleculares en el Centre de Recerca en Sanitat Animal (CRESA) para la identificación de las especies de *Salmonella* implicadas en estas infecciones.

Cabe destacar que dos de las tres especies de reptiles muestreadas para el estudio de *Salmonella spp.* han resultado positivas (Tabla 7). Los resultados confirman el papel de los reptiles como portadores inaparentes de este enteropatógeno, tal y como lo demuestran diferentes estudios (Awad-Masalmeh y cols., 2005; Hydeskov y cols., 2013). Existe por tanto un riesgo evidente de transmisión de *Salmonella spp.* a partir de estas especies de reptiles a otros individuos de la colección y a reservorios peridomésticos. A tenor de nuestros resultados, se recomienda el empleo de equipos de protección individual (EPIs) adecuados para el personal que manipula estos ejemplares.

El ejemplar de jabalí infectado tampoco mostró sintomatología clínica. Aunque desde nuestro conocimiento, no existen datos de infección por *Salmonella spp.* en jabalíes mantenidos en zoológicos, esta especie está considerada como reservorio natural de *Salmonella spp.* en España (Navarro-González y cols., 2012). De los animales positivos, sólo el avestruz mostró clínica, consistente en un proceso crónico generalizado, no asociado a una infección clínica por *Salmonella spp.*, que culminó con la eutanasia del animal por razones humanitarias.

Aunque no se aisló *Salmonella spp.* en el resto de especies del zoológico analizadas (Tabla 7), la infección por este patógeno zoonótico ha sido frecuentemente descrita en diferentes ejemplares de colecciones zoológicas (Forsyth y cols., 2012; Silva y cols., 2012).

**Tabla 7.** Análisis de *Salmonella* spp. en las especies de la colección del PZMC analizadas.

ESPECIES	<i>Salmonella</i> spp	ESPECIES	<i>Salmonella</i> spp
<b>ORDEN PRIMATES</b>		<b>ORDEN ACCIPITRIFORMES</b>	
Gibón de mejillas blancas ( <i>Hylobates leucogenys</i> )	0/2	Águila calzada ( <i>Hieraaetus pennatus</i> ) <sup>1</sup>	0/1
Lemur pardo ( <i>Eulemur fulvus</i> ) <sup>1</sup>	0/1	Águila culebrera ( <i>Circus gallicus</i> ) <sup>1</sup>	0/1
Lemur rufo ( <i>Varecia variegata</i> ) <sup>1</sup>	0/1	Buitre leonado ( <i>Gyps fulvus</i> ) <sup>1</sup>	0/1
Lemur de cola anillada ( <i>Lemur catta</i> ) <sup>1</sup>	0/1	Ratonero común ( <i>Buteo buteo</i> ) <sup>1</sup>	0/1
Macaco de Gibraltar ( <i>Macaca sylvanus</i> ) <sup>1</sup>	0/2	<b>ORDEN ARTIODACTYLA</b>	
Mangabey ( <i>Cercocebus atys ssp. Lunulatus</i> ) <sup>1</sup>	0/2	Arruí ( <i>Ammotragus lervia</i> ) <sup>1</sup>	0/1
Mono ardilla ( <i>Saimiri sciureus</i> ) <sup>1</sup>	0/1	Corzo ( <i>Capreolus capreolus</i> )	0/1
Mono de Brazza ( <i>Cercopithecus neglectus</i> )	0/2	Jabalí ( <i>Sus scrofa</i> )	1/1 (100 %)
Titi de pincel blanco ( <i>Callithrix jacchus</i> ) <sup>1</sup>	0/1	Pecari de collar ( <i>Pecari tajacu</i> ) <sup>1</sup>	0/1
Titi pigmeo ( <i>Callithrix pygmaea</i> ) <sup>1</sup>	0/1	Ñu de cola blanca ( <i>Connochaetes gnou</i> )	0/1
<b>ORDEN GALLIFORMES</b>		Llama ( <i>Lama glama</i> ) <sup>1</sup>	0/1
Pavo real ( <i>Pavo cristatus</i> )	0/1	<b>ORDEN PERISSODACTYLA</b>	
<b>ORDEN RODENTIA</b>		Asno ( <i>Equus africanus asinus</i> )	0/3
Mara ( <i>Dolichotis patagonum</i> ) <sup>1</sup>	0/1	Tapir ( <i>Tapirus terrestris</i> )	0/1
Capibara ( <i>Hydrochoerus hydrochaeris</i> )	0/1	<b>ORDEN CARNIVORA</b>	
<b>ORDEN STRUTHIONIFORMES</b>		León ( <i>Panthera leo</i> )	0/1
Ñandú ( <i>Rhea americana</i> ) <sup>1</sup>	0/1	Jaguar ( <i>Panthera onca</i> )	0/2
Avestruz ( <i>Struthio camelos</i> )	1/2 (50%)	Nutria ( <i>Lutra lutra</i> )	0/1
Emú ( <i>Dromaius novaehollandiae</i> ) <sup>1</sup>	0/1	Oso pardo ( <i>Ursus arctos</i> ) <sup>1</sup>	0/1
<b>ORDEN SQUAMATA</b>			
Serpiente del maíz ( <i>Elaphe guttata</i> )	1/1 (100 %)		
Falsa coral ( <i>Lampropeltis triangulum sinaloae</i> )	1/1 (100 %)		
<b>ORDEN TESTUDINES</b>			
Tortuga de espolones ( <i>Geochelone sulcata</i> ) <sup>1</sup>	0/2		

1) Detección a nivel grupal en instalación.

#### 6.4 Haemosporidiosis en paloma.

Un total de 52 de las 60 (86.7%; IC<sub>95%</sub>:78,3-95,0) palomas analizadas presentaron infección por *Haemoproteus*, sub. *Haemoproteus* lo que indica una amplia diseminación de éstos hemoparásitos en las poblaciones de palomas domésticas localizadas en el PZMC. Se observaron formas parasitarias intraeritrocitarias en distintas fases del estadio de gametocito, aunque al no haberse realizado estudios moleculares más específicos no se pudo determinar la especie concreta. En base a la localización geográfica y el hospedador implicado (paloma doméstica), las especies de *Haemoproteus* (*H.*) identificadas en nuestro estudio podrían corresponder a *H. columbae*, *H. sacharovi* y *H. turtur* (Valkiunas, 2005; Atkinson, 2008) (Tablas 4 y 8). Sin embargo, dado que la paloma doméstica es el hospedador principal de *H. columbae*, consideramos que esta es la especie más posiblemente implicada en las infecciones de los ejemplares analizados.

En el presente estudio no se observaron diferencias significativas de parasitación en relación al sexo o edad. Estos resultados contrastan con los observados por Sol y cols. (2003), en cuyo estudio se determinó una mayor prevalencia de infección en individuos jóvenes comparado con los adultos. Según estos autores, dicha asociación podría estar determinada por una mayor respuesta inmune frente a la infección en los animales adultos comparado con los jóvenes.

Cabe destacar la frecuencia de parasitación por mosca de las palomas (*Pseudolynchia canariensis*) observada en los ejemplares analizados, la cual ha sido considerada como uno de los principales vectores implicados en la transmisión de *Haemoproteus* así como de otros agentes infecto-contagiosos (Sol y cols., 2000).

La elevada prevalencia de infección detectada en palomas así como la presencia de vectores competentes, indican un riesgo transmisión a otras especies de colúmbidos, algunas de ellas amenazadas. Así, la infección por estos hemoparásitos podría afectar a especies como la paloma rabiche (*Columba junoniae*) y la paloma turquí (*Columba bollii*), ambas endémicas de las Islas Canarias (Foronda y cols., 2004). En este sentido, mortalidad asociada a infección por *H. columbae* en paloma apuñalada de Luzón (*Gallicolumba luzónica*) ha sido también descrita en aviarios de Sudáfrica (Valkiunas, 2005).

**Tabla 8.** Hospedadores adicionales para *H. columbae*, *H. sacharovi* y *H. turtur*.

<b>HAEMOPROTEUS COLUMBAE</b>	
<b>HOSPEDADORES ADICIONALES</b>	
<i>Claravis pretiosa</i> (tortolita azulada)	<i>Ptilinopus superbus</i> (tilopo soberbio)
<i>Columba cayennensis</i> (paloma colorada)	<i>P. viridis</i> (tilopo pechirrojo)
<i>C. fasciata</i> (paloma collajera)	<i>Scardafella aquammata</i> (torcacita escamada)
<i>C. flavirostris</i> (paloma morada)	<i>Streptopelia capicola</i> (tótola de El Cabo)
<i>C. guinea</i> (paloma de Guinea)	<i>S. chinensis</i> (tótola moteada)
<i>C. eversmanni</i> (paloma de ojo amarillo)	<i>S. decaocto</i> (tótola turca)
<i>C. leucocephala</i> (paloma coronita)	<i>S. decipiens</i> (tótola engañosa)
<i>C. oenas</i> (paloma zurita)	<i>S. orientalis</i> (tótola oriental)
<i>C. rupestres</i> (paloma de colina)	<i>S. picturata</i> (tótola malgache)
<i>Columbina cruziana</i> (tortolita peruana)	<i>S. semitorquata</i> (tótola ojirroja)
<i>C. passerina</i> (tortolita azul)	<i>S. senegalensis</i> (tótola senegalesa)
<i>C. talpacoti</i> (cocoquita)	<i>S. turtur</i> (tótola europea)
<i>Ducula pistrinaria</i> (dúcula insular)	<i>S. vinacea</i> (tótola vinosa)
<i>D. rubricera</i> (dúcula ceraraja)	<i>Treron calva</i> (vinago africano)
<i>Gallicolumba luzonica</i> (apuñalada de Luzón)	<i>Turtur abyssinicus</i> (palomita saheliana)
<i>Geotrygon montana</i> (perdiz cara roja)	<i>T. chalcospilos</i> (palomita aliverde)
<i>Macropygia nigrirostris</i> (Tórtola-cuco piquinegra)	<i>T. tympanistria</i> (palomita tamborilera)
<i>M. phasianella</i> (Tórtola-cuco parda)	<i>Zenaida asiatica</i> (zenaida aliblanca)
<i>Oena capensis</i> (tortolita rabilarga)	<i>Z. auriculata</i> (zenaida torcaza)
<i>Phapitreron leucotis</i> (vinago pardo común)	<i>Z. aurita</i> (zenaida caribeña)
	<i>Z. macroura</i> (zenaida huilota)

<b>HAEMOPROTEUS SACHAROVII</b>
<b>HOSPEDADORES ADICIONALES</b>

***Columba livia* (paloma doméstica)**  
*C. fasciata* (paloma collajera)  
*C. guinea* (paloma de Guinea)  
*Columbina passerina* (tortolita azul)  
*C. talpacoti* (cocoquita)  
*Macropygia phasianella* (tótola-cuco parda)  
*Streptopelia chinensis* (tótola moteada)  
*S. senegalensis* (tótola senegalesa)  
*Treron vernans* (vinago cuelliroja)  
*Zenaida asiatica* (zenaida aliblanca)

<b>HAEMOPROTEUS TURUR</b>
<b>HOSPEDADORES ADICIONALES</b>

***Columba livia* (paloma doméstica)**  
*Streptopelia orientalis* (tótola oriental)  
*S. senegalensis* (tótola senegalesa)

## **7. CONCLUSIONES**

### **Influenza Aviar**

- Los resultados en el presente estudio indican un papel poco relevante de la paloma doméstica en la epidemiología de la IA en el PZMC.
- En especies de la colección del PZMC se confirma la importancia del orden *Anseriformes* como reservorios de VIA.

### **Virus del CAEJ**

- Nuestros resultados confirman la circulación de flavivirus pertenecientes al CAEJ en la población de palomas domésticas asentadas en el PZMC, así como en los animales de la colección de dicho Parque.
- El elevado número de palomas seropositivas detectadas sugiere que esta especie podría estar implicada en el mantenimiento local de flavivirus del CAEJ. Proponemos la inclusión de las palomas como especie centinela para la monitorización de flavivirus del CAEJ en zonas urbanas.
- La seropositividad del ñu de cola blanca, indica la primera descripción de seroconversión frente a flavivirus del CAEJ en este ungulado silvestre.

### ***Salmonella spp.***

- Los resultados del presente estudio indican un papel poco importante de la paloma doméstica en la transmisión de *Salmonella spp.* tanto a las especies de la colección del PZMC como a otras especies con las que pueda entrar en contacto, incluido el hombre.
- Los aislamientos de *Salmonella spp.* encontrados en reptiles y jabalí, confirman el papel de estas especies como reservorios inaparentes de este enteropatógeno. Se recomienda el empleo de EPIs adecuados para el personal que entra en contacto con las especies infectadas.

### **Hemoparásitos**

- La elevada prevalencia de infección de *Haemoproteus*, *sub. Haemoproteus* detectada en palomas, así como la presencia de vectores competentes, indican un elevado riesgo de transmisión a otros colúmbidos, lo cual podría tener importantes implicaciones desde un punto de vista de la conservación.

## **8. AGRADECIMIENTOS**

A Rafael Guerra, veterinario del Parque Zoológico Municipal de Córdoba, sin el cual este trabajo no hubiera sido posible. Por poner su tiempo y conocimientos a mi disposición.

A Ignacio García, por dirigir este proyecto, por sus horas dedicadas de trabajo y paciencia, con el que he aprendido mucho y espero aprender mucho más.

A Carlos Expósito y Adrián Beato, futuros compañeros de profesión que han compartido trabajo y compañía durante las mañanas de muestreo en el zoológico.

A mis compañeros de Departamento, por estar ahí siempre que los he necesitado, en especial a Estefanía Jurado por su inestimable ayuda.

A Isabel Acosta, por facilitarme su ayuda siempre que lo he necesitado en el mundo de la parasitología.

A mis padres, que siempre me apoyan y animan a conseguir las metas que me propongo.

## **9. REFERENCIAS**

- 1) Abolnik, C. (2014) A current review of avian influenza in pigeons and doves (Columbidae). *Veterinary Microbiology* 170:181–196.
- 2) Adesiyun, A et-al. (1998) Prevalence of Salmonella and Campylobacter species in animals at Emperor Valley Zoo, Trinidad . *Journal of zoo and wildlife medicine* 29:237-239.
- 3) Amoruso, I et-al. (2014) Estimation of Feral Pigeon (*Columba livia*) population size using a novel Superimposed Urban Strata (SUS) method. *Urban ecosystems* 17:597-612.
- 4) Arenas A. et-al. (1990) Type a influenza viruses in birds in southern Spain: Serological survey by enzyme-linked immunosorbent assay and haemagglutination inhibition test. *Avian Pathology* 19:539-546.
- 5) Arenas-Montes, A. et-al. (August, 2014). Serosurveillance of flaviviruses in wild ruminants in southern Spain. Poster presented at the EWDA (European Wildlife Disease Association) congress. Edinburgh, Scotland.
- 6) Astorga R. J. et-al. (1994) Avian Influenza in wild waterfowl and shorebirds in the Doñana National Park: Serological survey using enzyme-linked immunosorbent assay. *Avian Pathology* 23:339-344.
- 7) Atkinson, C.T.; Thomas, N.J. and Hunter, B. *Textbook of Parasitic Diseases of Wild Birds*. John Wiley & Sons, Inc. 2008. 598 p. ISBN: 978-0-813-82081-1.
- 8) Avery, M et-al. (2008) Nicarbazin bait reduces reproduction by pigeons (*Columba livia*). *Wildlife research* 35:80-85.
- 9) Awad-Masalmeh, M et-al. (2005) The occurrence of salmonellae in reptiles kept privately or in zoos in Austria. *Tierärztliche umschau* 60:70-74.
- 10) Brown J. et-al. (2008) Experimental Infection of Swans and Geese with Highly Pathogenic Avian Influenza Virus (H5N1) of Asian Lineage. *Emerging Infectious Diseases* 14, 1.
- 11) Calistri, P et-al. (2010) West Nile Virus Transmission in 2008 in North-Eastern Italy *Zoonoses and public health* 57:211-219.
- 12) Candela M et-al. (2008) Microbiological survey for selected bacterial pathogens in European storm petrel (*Hydrobates pelagicus*, Linnaeus 1758) from Grosa Island (Murcia, Southeastern Spain). *Eur J Wildlife Res* 54:373–377.
- 13) Capua, I. et-al. (2000) Monitoring for highly pathogenic avian influenza in wild birds in Italy. *Veterinary record* 147:640-640.
- 14) Casanovas L. et-al. (1995) Intestinal carriage of campylobacters, salmonellas, yersinias and listerias in pigeons in the city of Barcelona. *Journal of Applied Bacteriology* 78:11-13.
- 15) CDC (Centers for Diseases Control and Prevention) <http://www.cdc.gov/>. Last accessed April 2014.
- 16) Chaintoutis, S.C. et-al. (2014) Evaluation of a West Nile virus surveillance and early warning system in Greece, based on domestic pigeons. *Comparative Immunology Microbiology and Infectious Diseases* 37:131-141.
- 17) Clark, P. *Atlas of Clinical Avian Hematology*. W. Boardman and S. Raidal. John Wiley & Sons, 2009. 200 p. ISBN: 978-1-4051-9248-4.

- 18) De-Sousa, E.et-al. (2010) Prevalence of Salmonella spp. Antibodies to Toxoplasma gondii, and Necastle disease virus in feral pigeons (Columba livia) in the city of Jaboticabal, Brazil. Journal of zoo and wildlife medicine 41:603-607.
- 19) Deegan, C.S. et-al. (2005) Sentinel pigeon surveillance for West Nile virus by using lard-can traps at differing elevations and canopy cover classes. Journal of medical entomology 42:1039-1044.
- 20) Dimitrov, K. et-al. (2010) Status of Wild Birds in Bulgarian Zoos with Regard to Orthomyxovirus and Paramyxovirus Type 1 Infections. Avian diseases. 54:361-364.
- 21) Dove A. et-al. (2004) Health status of free-living pigeons (Columba livia domestica) in the city of Ljubljana. Acta Vet Hung. 52:219-226.
- 22) Dranzoa, C. et-al. (1999) The ecto-gastro-intestinal and haemo-parasites of live pigeons (Columba livia) in Kampala, Uganda. Avian pathology 28:119-124.
- 23) Earle, R. et-al. (1993) Histopathology and morphology of the tissue stages of Haemoproteus columbae causing mortality in columbiformes. Avian pathology 22:67-80.
- 24) Ferrell, S.T. et-al. (2007) Fatal hemoprotozoal infections in multiple avian species in a Zoological Park. Journal of zoo and wildlife medicine 38:309-316.
- 25) Ferri, M. et-al. (September, 2011) Control of the urban pigeon (Columba livia) population and the preservation of common swift Apus apus and bats Chiroptera during the restoration of the Ghirlandina tower in the city of Modena (Italy) 8 th European Vertebrate Pest Management Conference. Berlin, Germany.
- 26) Foronda, P et-al. (2004) Parasites of Columba livia (Aves: Columbiformes) in Tenerife (Canary Islands) and their role in the conservation biology of the Laurel pigeons. Parasite journal de la societe francaise de parasitologie 11:311-316.
- 27) Forsyth, M. et-al. (2012) Investigation of Zoonotic Infections Among Auckland Zoo Staff: 1991-2010. Zoonese and Public Health 59:561-567.
- 28) Garcia-Bocanegra, I. et-al. (2011) Serosurvey of West Nile Virus and Other Flaviviruses of the Japanese Encephalitis Antigenic Complex in Birds from Andalusia, Southern Spain. Vector borne and zoonotic diseases 11:1107-1113.
- 29) García-Bocanegra, I. et-al. (2011) La enfermedad de West Nile. Epidemiología, control y situación en España. Información Veterinaria 3:19-25.
- 30) Gargiulo, A. et-al (2014). Occurrence of Enteropathogenic Bacteria in Urban Pigeons (Columba livia) in Italy. Vector-Borne and zoonotic diseases 14:251-255.
- 31) Gibbs et-al. (2005) Persistence of antibodies to West Nile virus in naturally infected rock pigeons (Columba livia). Clinical and diagnostic laboratory immunology 12:665-667.
- 32) Gilbert M. et-al. (2008) Mapping H5N1 highly pathogenic avian influenza risk in Southeast Asia. Proc Natl Acad Sci U S A 105:4769-74.
- 33) Gonzalez-Acuna, D et-al. (2007) Detection of some zoonotic agents in the domestic pigeon (Columba livia) in the city of Chillan, Chile Revista Chilena de infectologia 24:199-203.
- 34) Gronesova, P. et-al. (2009) Determination of hemagglutinin and neuraminidase subtypes of avian influenza A viruses in urban pigeons by a new nested RT-PCR. Acta virologica 53:213-216.



- 35) Hubalek, Z. et-al. (2008) Serologic survey of potential vertebrate hosts for West Nile virus in Poland. *Viral Immunology* 21:247-253.
- 36) Hydeskov, H.B. et-al. (2013) Salmonella Prevalence Among Reptiles in a Zoo Education Setting. *Zoonoses And Public Health*. 60:291-295.
- 37) Jeong-Ki K. et-al. (2009) Ducks: The “Trojan Horses” of H5N1 influenza. *Influenza Other Respir Viruses* 3:121–128.
- 38) Jurado-Tarifa E. et-al. (2014) Surveillance of Influenza Viruses in Waterfowl Used As Decoys in Andalusia, Spain. *PLoS ONE* 9(6): e98890.
- 39) Kapperud, G and Rosef, O. (1983). Avian wildlife reservoir of *Campylobacter fetus* subsp. *Jejuni*, *Yersinia* spp and *Salmonella* spp in Norway. *Applied and Environmental Microbiology* 45:375-380.
- 40) Keawcharoen J. et-al. (2008) Wild Ducks as Long-Distance Vectors of Highly Pathogenic Avian Influenza Virus (H5N1). *Emerg Infect Dis* 14:600–608.
- 41) Kohls, D. et-al. (2011) Influenza A virus monitoring in urban and free-ranging pigeon populations in Germany, 2006–2008. *Avian Diseases* 55:447–450.
- 42) Komar N. et-al. (2003) Experimental infection of North American birds with the New York 1999 strain of West Nile virus. *Emerging Infectious Diseases* 9:311-22.
- 43) Komar, N. et-al. (2001) Serologic evidence for West Nile virus infection in birds in Staten Island, New York, after an outbreak in 2000. *Vector borne and zoonotic diseases* 1:191-196.
- 44) Kulak, M. et-al. Surveillance and Identification of Influenza A Viruses in Wild Aquatic Birds in the Crimea, Ukraine (2006-2008). *Avian diseases* 54:1086-1090.
- 45) Lahuerta-Marin A. et-al. (2010) Isolation of a novel *Campylobacter jejuni* clone associated with the bank vole, *Myodes glareolus*. *Applied and Environmental Microbiology* 76:7318-21.
- 46) Lena, P et-al. (2006) Sero-survey for West Nile in wild birds in "The Dombes" Wetlands (01, Ain. France) in 2001: absence of detection of viral activity. *Revue de Medecine Veterinaire* 157:612-618.
- 47) Levine, R.S. et-al. (2013) Limited Spillover to humans from West Nile Virus viremic birds in Atlanta, Georgia. *Vector borne an zoonotic diseases* 13:812-817.
- 48) Lillehaug, A. et-al. (2005) Screening of feral pigeon (*Colomba livia*), mallard (*Anas platyrhynchos*) and graylag goose (*Anser anser*) populations for *Campylobacter* spp., *Salmonella* spp., avian influenzavirus and avian paramyxovirus. *Acta veterinaria scandinavica* 46:193-202.
- 49) Liu J. et-al. (2005) Highly pathogenic H5N1 influenza virus infection in migratory birds. *Science*. 309:1206.
- 50) Mackenzie J.S et-al. (2004) Emerging flaviviruses: the spread and resurgence of Japanese encephalitis, West Nile and dengue viruses. *Nat Med* 10:98-109.
- 51) Marcia, S. et-al. (2007) Parasites of pigeons (*Columba livia*) in urban areas of lages, Southern Brazil. *Parasitol Latinoam* 62:183 -187.
- 52) Molina-Lopez, R. et–al. (2011). Wild raptors as carriers of antimicrobialresistant *Salmonella* and *Campylobacter* strains. *Veterinary Record* 168, 565.

- 53) Mushi, E.Z.et-al. (2000) Parasites of domestic pigeons (*Columba livia domestica*) in Sebele, Gaborone, Botswana. *Journal of the south African veterinary association* 71:249-250.
- 54) Navarro-Gonzalez, N. et-al. (2012) Effect of Cattle on *Salmonella* Carriage, Diversity and Antimicrobial Resistance in Free-Ranging Wild Boar (*Sus scrofa*) in Northeastern Spain. *Plos One* 7, e51614.
- 55) OIE, Organización Mundial de Sanidad Animal. <http://www.oie.int/es/sanidad-animal-en-el-mundo/web-portal-sobre-la-influenza-aviar/>. Last accessed May 2014.
- 56) Pedersen, K. et-al. Prevalence of shiga toxin-producing *Escherichia coli* and *Salmonella enterica* in rock pigeons captured in fort Collins, Colorado. *Journal of wildlife diseases* 42:46-55.
- 57) Perez-Ramirez, E. et-al. (2010) Detection of low pathogenic avian influenza viruses in wild birds in Castilla-La Mancha (south central Spain). *Veterinary microbiology* 146:200-208.
- 58) Perkins, L. and Swayne, D. (2002). Pathogenicity of Hong Kong-origin highly pathogenic avian influenza virus for emus, geese, ducks and pigeons. *Avian Dis.* 46:53–63.
- 59) Radfar, M. et-al. (2012) Biodiversity and prevalence of parasites of domestic pigeons (*Columba livia domestica*) in a selected semiarid zone of South Khorasan, Iran. *Tropical animal health and production* 44:225-229.
- 60) RASVE (Red de Alerta Sanitaria Veterinaria). [http://rasve.magrama.es/Rasve\\_2008/Default.aspx](http://rasve.magrama.es/Rasve_2008/Default.aspx). Last accessed August 2014.
- 61) Rosef, O. (1981) The occurrence of *Campylobacter fetus* subsp *jejuni* and *Salmonella* bacteria in some wild birds. *Nordisk veterinær medicin*. 33:539-543.
- 62) Samani, A. et-al. (2013) Prevalence and Rate of Parasitemia of *Haemoproteus columbae* in *Columba livia domestica* in Southwest of Iran. *Iranian journal of parasitology* 8:641-644.
- 63) Senar, J.C. et-al. (2009). Estima de la abundancia de palomas (*Columba livia* var.) de la ciudad de Barcelona y valoración de la efectividad del control por eliminación de individuos. *Arxius de Miscel·lània Zoològica* 7:62-71.
- 64) Senlik, B. et-al. (2005) Prevalence and intensity of *Haemoproteus columbae* in domestic pigeons. *Indian veterinary Journal* 82:998-999.
- 65) Silva-Hidalgo, G. et-al. (2012) Non-typhi *Salmonella* serovars found in Mexican zoo animals. *Research in Veterinary Science* 93:1132-1135.
- 66) Sotelo, E. et-al (2011) La fiebre/encefalitis por virus West Nile: reemergencia en Europa y situación en España. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica* 30:75-83.
- 67) Tong, X. et-al. (2013), New World bats harbour diverse influenza A viruses *PLoS Pathog*, 9 p. e1003567.
- 68) Sol, D. et-al. (2003) Parasite mediated mortality and host immune response explain age-related differences in blood parasitism in birds. *Oecologia* 135:542-547.
- 69) Sol, D. et-al. (2000) Geographical variation in blood parasites in feral pigeons: the role of vectors. *Ecography* 23:307-314.
- 70) Tauxe, R.V. (1997). Emerging foodborne diseases: an evolving public health challenge. *Emerging Infectious Diseases*. 3:425–434.

- 71) Tanaka, C. et-al. (2005) Bacteriological survey of feces from feral pigeons in Japan. *Journal of veterinary medical science*. 67:951-953.
- 72) Teske, L. et-al. (2013) Epidemiological investigations on the possible risk of distribution of zoonotic bacteria through apparently healthy homing pigeons. *Avian Pathology* 42:397-407.
- 73) Tizard, I. (2004) Salmonellosis in wild birds. *Seminars in avian and exotic pet medicine*. 13:50-66.
- 74) Toro, H. et-al. (1999) Health status of free-living pigeons in the city of Santiago. *Avian Pathology* 28:619-623.
- 75) Valkiunas, G. *Textbook of Avian Malaria Parasites and Other Haemosporidia*. CRC-Press, 2005. 947 p. ISBN: 0-415-30097-5.
- 76) Venter, M. and Swanepoel, R. (2010) West Nile Virus Lineage 2 as a Cause of Zoonotic Neurological Disease in Humans and Horses in Southern Africa. *Vector-borne and zoonotic diseases* 10:659-664.
- 77) Vergara-Alert, Julia et-al. (2011) Two Successive Heterologous Vaccines against H5N1 Avian Influenza Virus in Exotic Birds in Zoos. *Clin. Vaccine Immunol* 18:697.
- 78) Weissenböck, H. et-al. (2003) Screening for West Nile virus infections of susceptible animal species in Austria. *Epidemiol. Infect.* 131:1023-1027.
- 79) Wheeler, SS et-al. (2009) Differential Impact of West Nile Virus on California Birds. *Condor* 11:1-20.

## **ANOTACIONES**